

ココア食物繊維の胃環境への影響

中村 尚夫 (甲子園大学栄養学部教授)

1. 食物繊維の定義・機能

近年、食物繊維に関する研究成果が多く報告され、第5次改定日本人の栄養所要量（1994）では成人1日1人あたり20～25gの目標摂取量が定められた。日本食品食物繊維成分表（1992）では食物繊維を水溶性食物繊維（以下SDF）と不溶性食物繊維として定量し、その合計量を総食物繊維とした。

「ヒトの消化酵素によって消化されない食品成分」を食物繊維の定義とし、定量法として酵素重量法（プロスキー法）が広く用いられている。

1970年代より、食物繊維の有効性・生理効果の研究成果が報告され、表1に示すように肥満予防、糖尿病予防、動脈硬化・胆石予防、有害物質の毒性軽減、大腸癌予防、便秘予防等6つの有効性がオーソライズされている。その他ストレス潰瘍への効果、レジスタントスターチ、レジスタントプロテイン、腸内短鎖脂肪酸生成等研究成果が多く報告されている。そこで脱脂ココアおよびプロスキー法で分離したココアSDFのラット胃環境への影響について検討した。

表1 食物繊維の主な効果

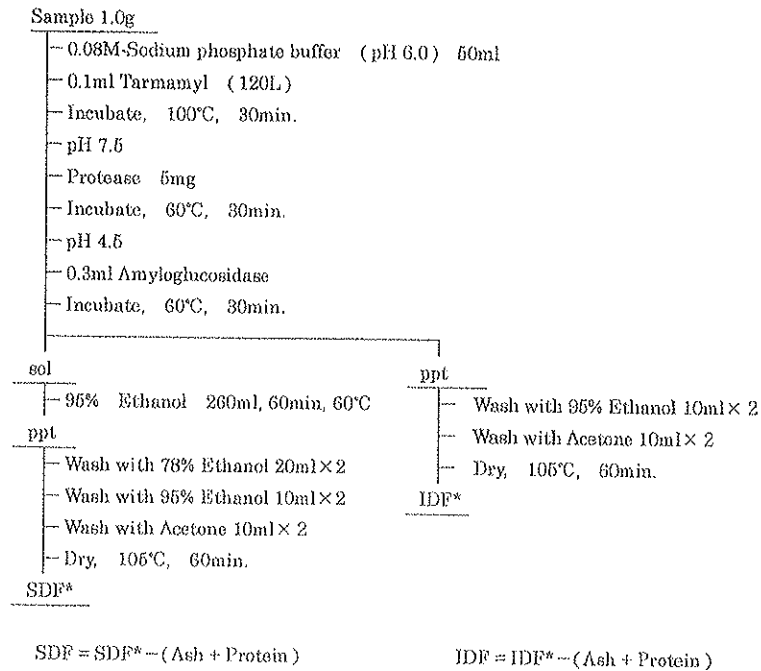
肥満予防
糖尿病予防
動脈硬化・胆石予防
有害物質の毒性軽減
大腸ガン予防
便秘予防
ストレス潰瘍予防
ミネラル吸収阻害

2. ココアの水溶性食物繊維

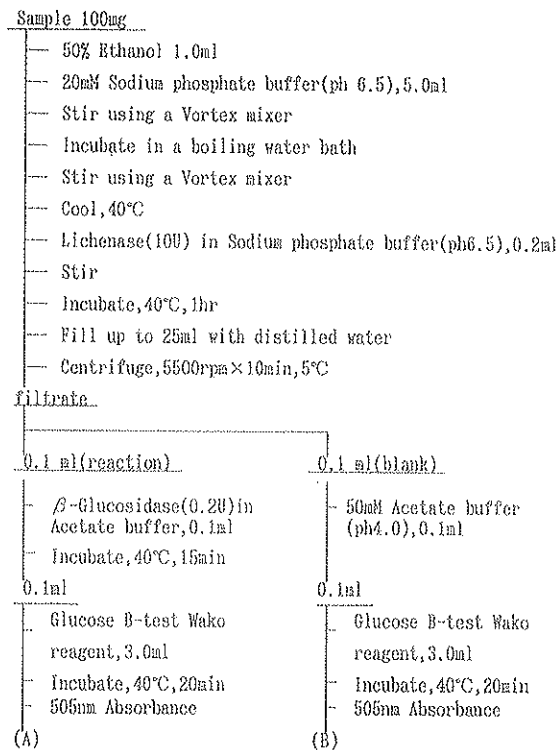
ココアからのSDFの抽出分離はScheme 1に示すProsky法を一部変更し、ヘミセルロースを可溶化するため酸処理の後、三種の酵素処理を行い、アルコール沈殿により調製した。

SDF中に含有する β -(1 \rightarrow 4)、(1 \rightarrow 3)-グルカンの定量は、Scheme 2に示すMcCleary法によって行った。この β -(1 \rightarrow 4)、(1 \rightarrow 3)-グルカンは米、小麦には存在せず、大麦、カラス麦に多く存在することが知られているが、ココアにも存在することを見出した。

Scheme 1 Determination of total dietary fiber (Prosky-AOAC)



Scheme 2 McCleary method for assay of β -(1→4), (1→3)-Glucan



3. 給餌実験

体重120g前後、5週令、SD ; jcl系雄ラットを用い、Table 2に示した飼料により14日間飼育した。脱脂ココアおよびSDFは基本飼料の5%スクロースを置換した。Test飼料は江崎グリコ㈱提供の脱脂ココア及び、ココアのSDFを用いた。Table 3に示すように、脱脂ココアおよびココアSDFのSDF含量はそれぞれ9.6%と47.5%であった。表には示していないが、 β -グルカン含量は脱脂ココア、ココアSDFそれぞれ1.0%、2.0%であった。Control飼料群及びTest飼料群はTest 2に示す通りとし、各飼料は水と均等に混和して給餌し、毎日体重測定を行い、増加量を群ごとに平均し示した。

Table 2 Food composition of experimental diets (%)

	Control	Test
Casein	20	20
Oil*	5	5
Minerals**	5	5
Vitamins**	2	2
α -Starch***	12	12
β -Starch***	28	28
Sucrose	28	23
Sample	—	5

Test; Cocoa SDF(5%), Defatted cocoa(5%)

* Oil; Soy bean oil: Fish liver oil, 4:1

** Minerals and Vitamins are composed by
A.E.Harper(Haper,A.E:J.Nutr.,68:405(1959))

*** α,β -Starch; Corn starch

Table 3 Approximate composition of samples (g/100g)

	SDF	Protein	Fat	Mineral
Cocoa SDF	47.5	21.8	3.6	10.1
Defatted cocoa	9.6	26.1	6.4	16.7

4. ストレス負荷実験

ラット（各群7匹）を14日間各飼料で飼育後、24時間絶食し、高木らの方法に従いストレスケージに拘束した状態で、23℃の水槽内に頸部まで水浸し21時間ストレス負荷した後、水槽から引き上げエーテル麻酔を施し胃を摘出後、10%ホルマリン固定を行い大湾に沿って切り開いた。ストレスによって胃線部に発生している粘膜損傷の面積を、OLYMPUS製LPGS顕微鏡にて測定し、1匹当りに発生している胃粘膜損傷面積（mm²）の合計を潰瘍係数とした。基本飼料群の潰瘍係数を100とした時の各Test飼料群の潰瘍の減少割合を潰瘍抑制率とした。脱脂ココアおよびココアSDF添加群で高い抑制率を示すことが明らかとなり、その抑制機構を明確にするため、形態学的観察を行った。

5. 光学顕微鏡および電子顕微鏡観察実験

1) 光学顕微鏡観察の実験方法

ストレス実験と同様にラットを各Test飼料で14日間飼育後、24時間絶食し、23℃水槽内に頸部まで21時間ストレス負荷した後、35%抱水クロラールを体重100gあたり0.1ml腹腔内注射し、1%グルタルアルデヒド、1%パラフォルムアルデヒド混液で左心室より灌流固定した。固定液はリン酸緩衝液（pH7.4）の1%グルタルアルデヒド及び1%パラフォルムアルデヒドの混合液を使用した。灌流固定後、胃を摘出し新鮮な固定液で一晩浸し、リン酸緩衝液で固定液を除去後カミソリで厚さ約1mmの切片を作成した後、2%オスミウム水溶液で4℃2時間2次固定し、2%酢酸ウランに浸漬し、ブロック染色エタノール系列で脱水し、酸化溶液で洗浄し流水で洗浄、アルコール系列で脱水した。プロピレン処理し酸化プロピレン/エポン混合液に浸漬後、エポン樹脂にて60℃で2日間抱埋重合

させた。これを、Sorvall MTIウルトラミクロトームを用い、ガラスナイフで1 μ mの厚さに薄切した。これを、水道水にて洗浄した後0.5%過ヨウ素酸水溶液に浸し、蒸留水で洗浄、Schiff試薬に15分浸し、SO₂溶液で洗浄し流水で洗浄、エタノール系列で脱水した。これを光顕観察した。

2) 光学顕微鏡観察と同じラットを用い、電子顕微鏡観察用には、超薄切片を作成後グリッドに拘い取り、4%酢酸ウランとreynoldsの鉛染色液で二重染色後、カーボン蒸着を施し、日立H300型、透過型電子顕微鏡観察した。

6. 食物繊維の胃環境への影響

14日間飼育期間中Control飼料群、Tests飼料群共に順調な体重増加を示した (Fig.1)。Table 4に食餌摂取量、SDF摂取量、 β -グルカン摂取量、体重増加量を示した。食餌摂取量および体重増加量に有意差は認められなかった。Table 5に臓器重量を示した。胃、小腸、肝、脾、副腎重量には有意差は認められなかった。Table 6に水浸ストレス負荷後の潰瘍係数およびストレス潰瘍抑制率を示した。基本飼料群に比べ脱脂ココア群で46.4%、ココアSDF群で69.8%と有意に高い抑制率を示した。ストレス潰瘍抑制機構を明らかにするために形態学的観察を行った。光学顕微鏡観察ではストレス負荷-基本飼料群で過度のストレスのため、表層粘液細胞の染色はわずかに表層部で観察され胃小窩部が短くなった。観察図では赤紫色であったが白黒のため、濃灰色部分で示す (Fig.2)。ストレス負荷-ココアSDF添加群では胃小窩部及び表層粘膜細胞が厚く、PAS反応陽性像が多く観察された (Fig.3)。電子顕微鏡観察では、ストレス負荷-基本飼料群では表層粘膜顆粒

Fig.1 Growth response curve of SD;jcl rats

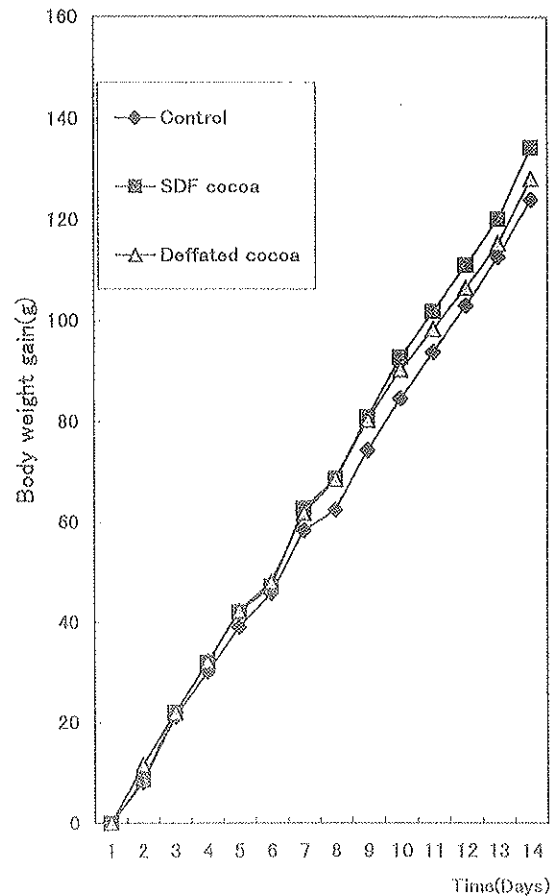


Table 4 Food, soluble dietary fiber and β -glucan intake, and body weight gain (g/14days)

Diets	Food intake	SDF intake	β -glucan intake	Body weight gain
Control	305	—	—	124 \pm 14
Cocoa SDF(5%)	325	7.7	0.15	134 \pm 12
Deffated cocoa(5%)	331	1.6	0.02	128 \pm 7

Table 5 Weight of organs in rats after feeding for 14days (g/100g body weight)

Diets	Stomach	Intestine	Liver	Spleen	Adrenal
Control	0.65±0.05	3.61±0.21	4.08±0.54	0.18±0.08	0.05±0.01
Cocoa SDF	0.67±0.07	3.37±0.63	3.88±0.60	0.19±0.02	0.05±0.01
Defatted cocoa	0.67±0.08	3.05±0.25	3.76±0.45	0.19±0.04	0.04±0.01

Table 6 Effects of cocoa diets on water immersion induced stress ulcer in rats

Diets	Ulcer index(mm ²) mean ± S.D	Protective rate(%)
Control	29.5±5.85	—
Cocoa SDF(5%)	8.9±6.04	69.8*
Defatted cocoa(5%)	15.8±5.35	46.4*

* :Significantly different from the values of rats fed on a control diet, p<0.05

Fig.2 光顕写真 基本飼料添加群—ストレス負荷後



Fig.3 光顕写真 ココアSDF添加群—ストレス負荷後



Fig.4 光顕写真 基本飼料添加群—ストレス負荷後

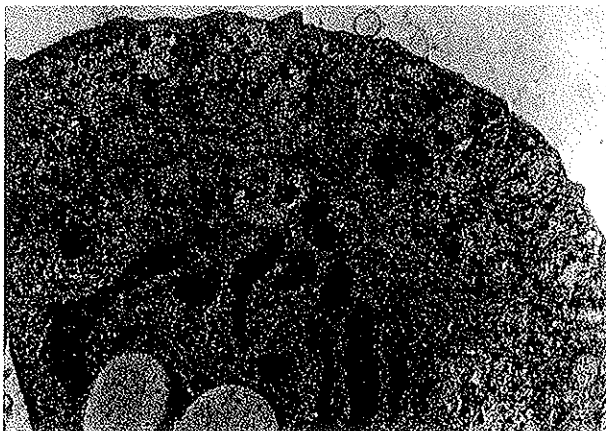
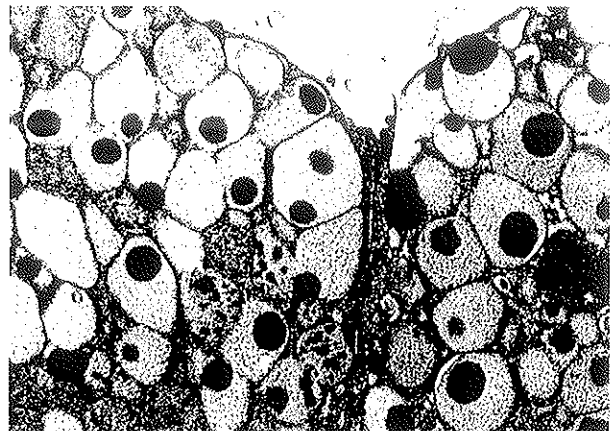


Fig.5 光顕写真 ココアSDF添加群—ストレス負荷後



が核の周辺部分にのみ存在することが観察された (Fig.4)。ストレス負荷-ココアSDF群では表層粘液細胞が厚く、粘液顆粒が充満していることが観察され (Fig.5)、粘液産能が活性化し攻撃因子から胃を防御していると考えられる。

7. 要約

ストレスによって生じたラットの胃潰瘍に対して、ココア中のSDFが抑制効果を示すかどうかを検討した。また、胃潰瘍に対して抑制作用が強いとされているSDF中に含まれる β -(1 \rightarrow 4)、(1 \rightarrow 3)-グルカンについても同様に検討した。

1. ココアSDF試料中のProsky法によるSDF含量は47.5%、McCleary法による β -(1 \rightarrow 4)、(1 \rightarrow 3)-グルカン含量は2.0%であった。
2. 脱脂ココア試料中のSDF含量及び β -(1 \rightarrow 4)、(1 \rightarrow 3)-グルカン含量は、それぞれ9.6%、1.0%であった。
3. 基本飼料群に対してココアSDF投与で69.8%、脱脂ココア投与で46.4%、と高い潰瘍抑制率を示した。
4. ココアSDF投与ラットは基本飼料群と比較して光学顕微鏡観察では、ムチンタンパクと考えられるPAS反応陽性像の増加が観察された。
5. 電子顕微鏡観察では、胃表層粘膜細胞層の厚さおよび各細胞内の粘液顆粒の充満度に効果のあることが観察された。